

- For more records, click the Records link at page end.
- To change the format of selected records, select format and click Display Selected.
- To print/save clean copies of selected records from browser click Print/Save Selected.
- To have records sent as hardcopy or via email, click Send Results.

<input checked="" type="checkbox"/> Select All	<input type="checkbox"/> Clear Selections	<input type="checkbox"/> Print/Save Selected	<input type="checkbox"/> Send Results	<input type="checkbox"/> Display Selected	Format Free
--	---	--	---------------------------------------	---	----------------

1. ☐ 12/5/1 DIALOG(R)File 352:Derwent WPI (c) 2006 Thomson Derwent. All rts. reserv.

007732204

WPI Acc No: 1988-366136/198851

XRAM Acc No: C88-162285

Antitumour agent - prepd. by extracting tea leaves with
lower alcohol, removing chloroform-and ethyl acetate-solubles, and drying
aq. layer

Patent Assignee: SHIZUOKA CHAGYO KAI (SHIZ-N); TERUMO CORP (TERU)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 63277628	A	19881115	JP 87100061	A	19870424	198851 B

Priority Applications (No Type Date): JP 87100061 A 19870424

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 63277628	A		7		

Abstract (Basic): JP 63277628 A

Antitumour agent is prepd. by extracting tea leaves with a lower
alcohol; removing chloroform-solubles and ethyl acetate-solubles from
the resultant extract and drying the aq. layer.

USE/ADVANTAGE - The antitumour agent shows a high
tumour-prevention by oral dose to mice inoculated with sarcoma.

In an example, 75g of freeze-dried green tea leaves cultured with
no agricultural chemicals is extracted 3 times with 1.2 litre of
methanol at room temp.. The methanol extract is evaporated and the
residue is dissolved in 300ml water. The aq. soln. is treated 4 times
with 300ml chloroform at room temp. and 5.4g chloroform layer is
removed. The aq. layer is evaporated to 300 ml. It is treated 4 times
with 300ml ethyl acetate and 8.7g ethyl acetate layer is removed and
the aq. layer is evaporated to 300ml.. It is treated 3 times with 300ml
butanol soln.. The butanol layer is removed and the aq. layer is freeze
dried to 2.3g solid. It shows a tumour prevention in ICR mouse of
sarcoma 180 of 54.2%.

Title Terms: ANTITUMOUR; AGENT; PREPARATION; EXTRACT; TEA; LEAF; LOWER;
ALCOHOL; REMOVE; CHLOROFORM; ETHYL; ACETATE; SOLUBLE; DRY; AQUEOUS; LAYER

Derwent Class: B04

International Patent Class (Additional): A61K-035/78

File Segment: CPI

Derwent WPI (Dialog® File 352): (c) 2006 Thomson Derwent. All rights reserved.

<input checked="" type="checkbox"/> Select All	<input type="checkbox"/> Clear Selections	<input type="checkbox"/> Print/Save Selected	<input type="checkbox"/> Send Results	<input type="checkbox"/> Display Selected	Format Free
--	---	--	---------------------------------------	---	----------------

© 2006 Dialog, a Thomson business

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-277628

⑮ Int. Cl.⁴

A 61 K 35/78

識別記号

ADU

庁内整理番号

8413-4C

⑯ 公開 昭和63年(1988)11月15日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁)

⑭ 発明の名称 抗腫瘍剤

⑰ 特 願 昭62-100061

⑱ 出 願 昭62(1987)4月24日

⑲ 発 明 者 野 村 武 男 東京都日野市百草858-1
 ⑲ 発 明 者 山 本 茂 博 東京都大田区南馬込5-43-3-703
 ⑲ 発 明 者 鈴 木 宏 東京都新宿区早稲田鶴巻町540 つるまきハウス6E
 ⑲ 発 明 者 小 國 伊 太 郎 静岡県浜松市泉1丁目3-9
 ⑲ 発 明 者 金 谷 節 子 静岡県浜松市三方原町3453
 ⑲ 発 明 者 那 須 恵 子 静岡県浜松市佐藤町17-1
 ⑳ 出 願 人 テルモ株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目44番1号
 ㉑ 出 願 人 社団法人 静岡県茶業 静岡県静岡市北番町81
 会議所
 ㉒ 代 理 人 弁理士 高木 千嘉 外2名

明 細 書

1. 発明の名称 抗腫瘍剤

2. 特許請求の範囲

1) 茶葉を低級アルコールで抽出し、得られた抽出物からクロロホルム可溶物および酢酸エチル可溶物をそれぞれ実質的に除去し、次いで水層を乾燥することによって得られる抗腫瘍剤。

2) 低級アルコールがメタノールである特許請求の範囲第1項に記載の抗腫瘍剤。

3) 残留物を水に溶解し、得られた水溶液からクロロホルム可溶物および酢酸エチル可溶物をそれぞれ除去したのち更に、得られた水溶液をブタノールで抽出精製して得られる特許請求の範囲第1項記載の抗腫瘍剤。

4) 下記の物理化学的特性を有する特許請求の範囲第1項記載の抗腫瘍剤。

(i) 色と形状

褐色、粉末状

(2) 赤外線吸収スペクトル

第1図に示す通りである。

$$I R_{\text{max}} \text{ KBr } \text{cm}^{-1}: 3400\text{cm}^{-1}, 2930\text{cm}^{-1}, \\ 1070\text{cm}^{-1}, 1040\text{cm}^{-1}, \\ 810\text{cm}^{-1}$$

(3) 紫外線吸収スペクトル

第2図に示す通りである。

溶媒はメタノールを使用した。

(4) 高速液体クロマトグラフィー

第3図に示す通りである。

溶離液は、0.05Mリン酸緩衝液とアセトニトリルの混合物(80:20)を使用し、流速は1.0 ml/分とした。

保持時間: 3.9分、4.6分、5.2分、

5.7分、6.2分、7.1分、およ

び8.1分にピークを認めた。

(5) 溶解性

水 : 溶 け 易 い

メタノール: 溶 け 易 い

エタノール: や や 溶 け 易 い

アセトン：きわめて溶けにくい

クロロホルム及び酢酸エチルにはほとんどあるいは全く溶けない。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は抗腫瘍剤に関する。特に茶葉より抽出した新規な抗腫瘍剤に関する。

〔従来の技術〕

茶 (*Camellia sinensis* L.)、特に緑茶中に薬理効果を有する成分が含まれていることは知られており、それらの成分としてビタミンC、カフェイン、キサンチン、タンニン、ゲラニオール、クロロフィル、サポニン等が挙げられる。

抗腫瘍作用を有する成分としては、茶タンニン混合物及びその主成分である(-)-epigallo-catechin gallate (EGCG) が原征彦らによって報告されている(第43回日本癌学会総会記事、昭和59年10月、p.280 講演No.993)。

〔発明の目的〕

本発明者らは茶葉について種々研究した結

果、前記の(-)-epigallo-catechin gallate (EGCG) 以外にも、茶葉を低級アルコールによって抽出し、該抽出物からクロロホルム可溶分と酢酸エチル可溶分とをそれぞれ除去したものに抗腫瘍作用を有する別の成分が含まれていることを知り、本発明を完成させた。

従って、本発明の目的は抗腫瘍作用を有する新規な茶葉抽出成分を提供することを目的とする。

〔発明の目的を達成するための手段〕

上記の目的は以下の構成を有する本発明によって達成される。

1) 茶葉を低級アルコールで抽出し、得られた抽出物から溶媒を留去し、残留物を水に溶解し、得られた水溶液からクロロホルム可溶物および酢酸エチル可溶物をそれぞれ除去し、次いで乾燥することによって得られ、かつ、下記の物理化学的特性を有する抗腫瘍剤。

(1) 色と形状

褐色、粉末状

(2) 赤外線吸収スペクトル

第1図に示す通りである。

$\text{IR } \frac{\text{KBr}}{\text{max}} \text{ cm}^{-1} : 3400\text{cm}^{-1}, 2930\text{cm}^{-1},$
 $1070\text{cm}^{-1}, 1040\text{cm}^{-1},$
 810cm^{-1}

(3) 紫外線吸収スペクトル

第2図に示す通りである。

溶媒はメタノールを使用した。

(4) 高速液体クロマトグラフィー

第3図に示す通りである。

溶離液は、0.05Mリン酸緩衝液とアセトニトリルの混合物(80:20)を使用し、流速は1.0 ml/分とした。

保持時間：3.9分、4.6分、5.2分、

5.7分、6.2分、7.1分、及び
 8.1分にピークを認めた。

(5) 溶解性

水：溶け易い

メタノール：溶け易い

エタノール：やや溶け易い

アセトン：きわめて溶けにくい

クロロホルム及び酢酸エチルにはほとんどあるいは全く溶けない。

2) 茶葉を低級アルコールで抽出し、得られた抽出物から溶媒を留去し、残留物を水に溶解し、得られた水溶液からクロロホルム可溶物および酢酸エチル可溶物をそれぞれ除去し、得られた水溶液をブタノールで抽出精製して得られる第1項記載の抗腫瘍剤。

3) 低級アルコールがメタノールである第1項または第2項に記載の抗腫瘍剤。

茶は学名をカメリア・シネンシス (*Camellia sinensis*) といい、ツバキ科の常緑低木である。この植物の葉から飲料がつくられる。飲料に供される茶を大別すると緑茶、紅茶、烏竜茶の3種類がある。本発明においては、緑茶を原料として使用する。好適には、無農薬で栽培した緑茶生葉を乾燥したものを使用する。

本発明による抗腫瘍剤は、以下のようにして得ることができる。

最初に茶葉の凍結乾燥品を低級アルコールで抽

出処理する。このような低級アルコールの例としては、メタノール、エタノール、プロパノール等があげられる。抽出処理は常法により、室温下で数時間～数月行なわれる。

かくして得られたメタノール抽出物を蒸発乾固させ、それを水中に溶解し、水溶液を得、それをクロロホルムにより処理する。クロロホルム処理は、室温で、30分～10数時間行なわれる。この処理によって得られたクロロホルム層即ちクロロホルム可溶物を含む層を除く。このクロロホルム可溶物には、茶の成分であるクロロフィル、カフェインがある。残りの水層を採り、クロロホルム臭が消失するまで水分を蒸発させ、次いで酢酸エチルにより処理する。この酢酸エチル処理は、室温で、30分～10数時間数回行なわれる。この処理によって得られた酢酸エチル層、即ち酢酸エチル可溶物を含む層を除く。茶葉中の酢酸エチル可溶物には、前記した(-)・epigallo-catechin gallate (EGCG)が含まれる。前記EGCGを含まない残りの水層を採り、酢エチ臭が消失するまで水

分を蒸発させ、ブタノールにより抽出処理する。抽出は、室温で、30分～10数時間数回行なわれる。かくして得られた抽出液から蒸留等により溶媒を留去し、次いで種々の方法によって乾燥することによって所望の抗腫瘍作用を有する茶葉抽出物が得られる。

本発明の抗腫瘍剤である茶葉抽出物の特性は次のとおりである。

(1) 色と形状

褐色、粉末状

(2) 赤外線吸収スペクトル

第1図に示す通りである。

$$I R \text{ (KBr)} \text{ cm}^{-1}: 3400 \text{ cm}^{-1}, 2930 \text{ cm}^{-1}, \\ 1070 \text{ cm}^{-1}, 1040 \text{ cm}^{-1}, \\ 810 \text{ cm}^{-1}$$

(3) 紫外線吸収スペクトル

第2図に示す通りである。

溶媒はメタノールを使用した。

$$U V \lambda_{\max}: 268 \text{ nm}$$

$$U V \lambda_{\max}: 249 \text{ nm}$$

(4) 高速液体クロマトグラフィー

第3図に示す通りである。

条件は以下の通りとした：

ポンプ：センシユー科学製 3.100型

カラム：UNISIL PAX C18

(ガスクロ工業製)

溶離液：0.05Mリン酸緩衝液とアセト
ニトリルの混合物(80:20)

流速：1.0 ml/分

検出：UVモニター 280nm

(日本分光製 UNIDEC 100-C)

試料：各100ppm 20μl 導入

保持時間：3.9分、4.6分、5.2分、

5.7分、6.2分、7.1分、及び

8.1分にピークを認めた。

(5) 溶解性

水：溶け易い

メタノール：溶け易い

エタノール：やや溶け易い

アセトン：きわめて溶けにくい

クロロホルム、酢酸エチルにはほとんど或は全く溶けない。

(6) 急性毒性

経口投与 1000mg/kg(体重)(ICRマウス雄)で毒性なし。

参考のために、公知の茶葉抽出物である(-)・epigallo-catechin gallate (EGCG)の特性を示す。

(1) 色と形状

微褐色粉末

(2) 赤外線吸収スペクトル

第4図に示す通りである。

(3) 紫外線吸収スペクトル

第5図に示す通りである。

溶媒はメタノールを使用した。

$$U V \lambda_{\max}: 277 \text{ nm}$$

$$U V \lambda_{\min}: 250 \text{ nm}$$

(4) 高速液体クロマトグラフィー

第6図に示す通りである。

条件は、本発明の抗腫瘍剤の場合と同じにし

た。

保持時間：4.2分、5.8分、6.3分、
及び10.4分にピークを認めた。

(5) 溶解性

水：やや溶けにくい

メタノール：溶け易い

エタノール：溶け易い

アセトン：溶け易い

酢酸エチル：やや溶け易い

クロロホルムにはほとんど或は全く溶けない。

以上の特性より明らかなように、本発明による茶葉抽出物は、(-)-epigallo-catechin gallate (EGCG) と種々の物理化学的特性を異にしている。従って、本発明の茶葉抽出物は新規な物質であることが明らかである。

本発明の茶葉抽出物は、常法に従って製剤化され投与される。例えば、本抽出物の乾燥粉末をバイアル等の容器にいれ、別にアンプル等の容器に生理食塩水、ブドウ糖液あるいはカルボキシメチルセルロース(CMC)懸濁液を用意し、

mlにより3回処理した。

得られたブタノール層を蒸発させ、次いで凍結乾燥させたところ乾固物2.3gが得られた。

製剤例 1

実施例1で得られた茶葉抽出物100mgを無菌5%注射用ブドウ糖溶液100ml中に懸濁し、この液を1mlずつバイアルに無菌的に分注し、凍結乾燥した。このようにして1バイアル中に1mgの茶葉抽出物を含む製剤を得た。用時、注射用蒸留水に懸濁して使用する。

製剤例 2

上記1と同様にしてバイアルに製剤をつくった。ただし、無菌5%注射用ブドウ糖溶液100mlの代りに薬局法CMCの0.5%注射用生理食塩水懸濁液100mlを使用した。用時、注射用蒸留水に懸濁して使用する。

上記実施例1で得られた抽出物について抗腫瘍作用の効果を測定した。

(以下余白)

用時粉末を懸濁溶解して注射する。その他、エマルジョンにして注射してもよい。例えば油中水(W/O)型エマルジョンの場合は流動パラフィン等の鉱物油、ゴマ油、ピーナツ油等の植物油にソルビタン脂肪酸エステル等の界面活性剤を組み合わせて用いる。

以下本発明を実施例、製剤例及び試験例によりさらに詳しく説明する。

実施例 1

無農薬で栽培した緑茶生葉の凍結乾燥物15gを室温下でメタノール各1.2lにより3回抽出した。得られたメタノール抽出液を蒸発乾固させ、それを水300ml中に溶解した。この水溶液を室温下でクロロホルム各300mlにより4回処理し、クロロホルム層5.4gを除いた。

クロロホルム臭がなくなるまで、水層を蒸発させ約300mlとした。次いで酢酸エチル各300mlにより4回処理し、得られた酢酸エチル層8.7gを除き、酢酸エチル臭がなくなるまで残った水層を蒸発させ約300mlとした。ブタノール溶液各300

試験例 1

ザルコーマ180 固形ガンに対する効果

(試料調製)

リン酸緩衝食塩水(ギブコ社製、リン酸9.5mMを含む;PBS)に0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)を懸濁させた溶液に所定濃度になるように実施例1の抽出物を溶解させた。

(ザルコーマ180 ガン細胞移植)

ICRマウス腹腔中で継代培養したザルコーマ180ガン細胞を腹水とともにとり出し、生理食塩水で適当に希釈して細胞数が 1.0×10^8 個/mlとなるように調製した。この懸濁液の0.1mlを4週令、雄ICRマウス背部皮下に注射器を用いて細胞を移植した。

(試料投与)

ザルコーマ180腫瘍細胞を移植したマウスに移植後1日目より連日5日間上記試料を経口的に400mg/kg投与した。1試料につき8匹のマウスを使用した。対照は、何も投与しないものとした。

(効果の判定法)

ガン細胞移植後35日目にそれぞれのマウスの固形腫瘍の重量を測定した。

腫瘍抑制率は以下の式により求めた。

$$\frac{\text{対照の腫瘍重量} - \text{腫瘍重量}}{\text{対照の腫瘍重量}} \times 100 = \text{腫瘍抑制率}(\%)$$

(結 果)

上記の方法によって測定した本発明の茶葉抽出物の腫瘍抑制率は、54.2%であった。

[発明の効果]

以上説明したように、本発明によれば、茶葉を低級アルコールで抽出したものからクロロホルム可溶分と酢酸エチル可溶分とを除去することにより新規な抗腫瘍剤を得ることができる。

本発明の抗腫瘍剤は、ザルコーマ180 移植後のマウスに経口投与することにより、著しい腫瘍抑制効果を示す。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の抗腫瘍剤の赤外線吸収スペ

クトルを示し、第2図は紫外線吸収スペクトルを示し、第3図は高速液体クロマトグラフィーを示す。

第4図は、公知の抗腫瘍作用を有する茶葉抽出物の赤外線吸収スペクトルを示し、第5図は紫外線吸収スペクトルを示し、第6図は高速液体クロマトグラフィーを示す。

特許出願人

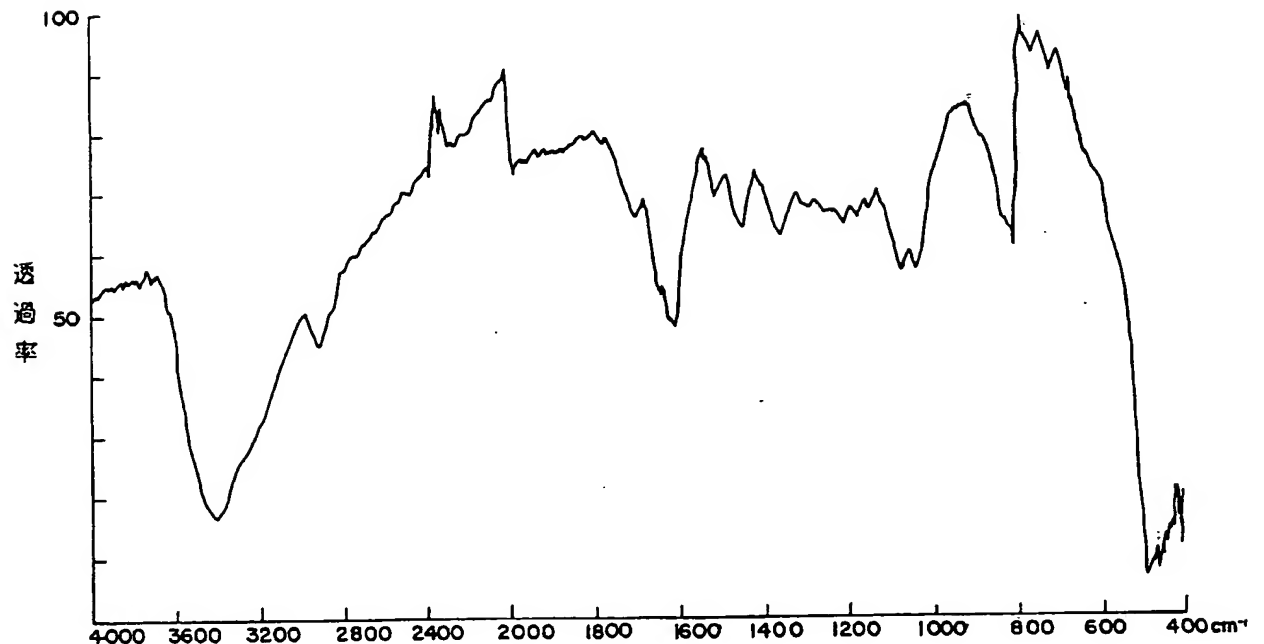
同

代 理 人

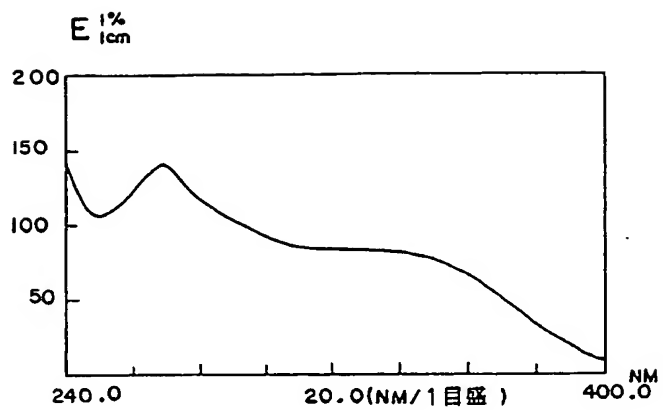
テ ル モ 株 式 会 社
社団法人 静岡県茶業会議所

井 理 士 高 木 千 島

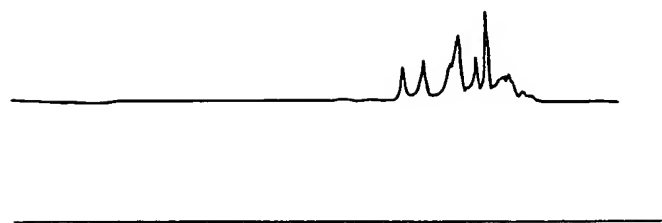
(外2名)



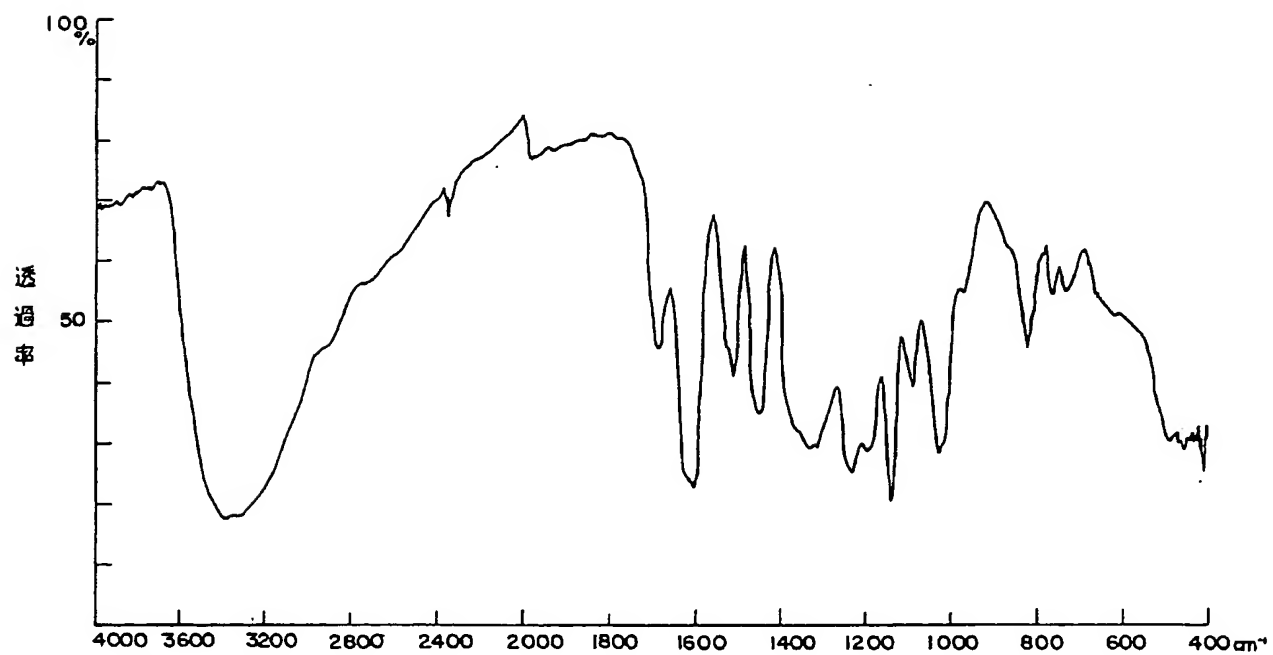
第 1 図



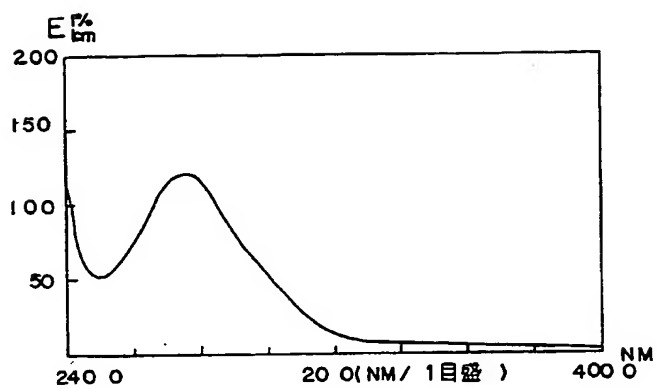
第 2 図



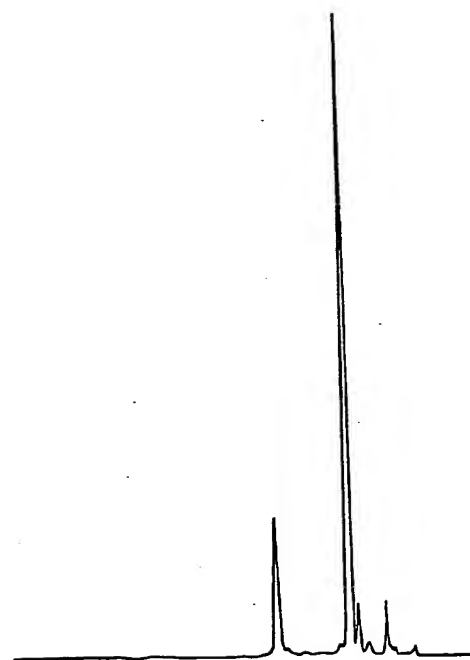
第 3 図



第 4 図



第 5 図



第 6 図